

4. 寄稿

4.1 機能複合体解析から迫るクロマチン制御機構とは？

生体制御情報系 准教授 田上 英明

「全く分かん」とは、私のジョブセミナー後に言われた桑江先生の感想である。「先生の仕事はどういったモノか、未だによく分からない」着任して3年目になったつい先日、森山先生からも言われてしまった。私の研究とはそんなに難解なのだろうか？説明が下手すぎるのだろうか？もしかしたら、やはり中身の無い見せかけだけなのかもしれない。そんな自信をなくしている時に「素人にも分かるように研究内容を紀要に書いてください」と渡邊先生から静かにそして断りを許さない強い口調でこの原稿を依頼されてしまった。詳しい研究内容は論文として発表するとして、私はどういった経緯で研究しているのか、これからどう展開していきたいのか、ここではその背景と決意みたいなものを下手くそなエッセイ風に書きたい。

「科学というものは全て文章で表されるもの、図や写真で示したことは美しいフランス語で記述できなければ真理にはならない。」とフランス人は言うらしい。私はフランス語は一切できない。

「書いてなんぼ」、「Publish or Perish」、「論文でた？」研究室に入って15年以上、耳にタコができるくらい聞かされている。研究者である以上論文を書くしか生きる道はないのである。なんと厳しいところに来てしまったのだろうか、と気付いたら断崖絶壁を登っていた心境である（因みに私は強度の高所恐怖症で、想像しただけで背筋がさむくなる）。しかし、今さら後悔しても始まらない。何しろ、実験科学は楽しいのだから。好きな研究ができて、さらに大学教育にまで携われて給料までもらえる。こんなハッピーな暮らしはない。

生物学者にはもともと昆虫少年であったり、生物採集が好きだったりする人が多いが、私は虫も血も（人も）実は苦手である。「生物」という教科も好きではなかったのも、高校では履修していない。生物（いきもの）は観察するのは楽しいが、メカニズムはとても複雑そうできれいな数式で近似しにくい、博物学的で論理的でない文系の科目だ（と思っていた）。数学や理論物理学のような美しい科学に憧れたが、最も点数が取れた科目は国語と社会だったのだから私も全く論理的でない。

恐らくDNAとかバイオとか言う言葉に踊らされたのだろう。当時できたばかりの「分子生物学科」という名前に憧れて名古屋に来たのである。生物を学ぶ上で受精や発生ほどダイナミックで面白い現象はない。自分もまた生物で、後に一人の父親として生命の素晴らしさを思い知ることになったが、学生時は生命を現象論ではなく分子の働きとして理解したいという分子生物学の要素還元主義にすっかり洗脳されていた。最も単純なモデル生物である大腸菌を対象に遺伝子発現調節機構の研究を始めたのである。この時以来、「如何にして遺伝情報が生体機能に展開されるのか？」という命題が一貫した私の研究テーマであると言ってよい。

その当時でも既に大腸菌研究の一大隆盛期は過ぎ、より高等生物を用いた分子生物学が盛んになり始めていた。最も良く研究されてきた大腸菌ラクトースオペロンの系で転写因子CRP(cAMP受容タンパク質)とRNAポリメラーゼを使って試験管内で転写調節の分子メカニズムを探るといふ針の穴に糸を通すような精密実験を繰り返すうちに、どんどん深みに嵌って行ってしまった。「高級テクニシャン」というあまり嬉しくない陰口も聞こえてきた。しかし、次第に生化学的に転写制御機構を詰めていく手法に限界、閉塞感を感じるとともに、これが生物なのだろうか？という疑問も抱くようになった。

もう一度違う分野で自分の力を試したい、と決意して渡米し、ヒト培養細胞を用いたクロマチン制御研究に着手した。初めて大腸菌以外の生物（といっても細胞だが）を取り扱い、顕微鏡できらきら輝く癌細胞を見て、きれいだと思った。細胞がよく育つように毎日世話す

るのは楽しかったが、ヘテロクロマチン再構成を目指した最初の1年はなかなかめばしいデータが出なかった。この先、研究者として生きていけるのかという不安以前に、既に家族もいて来年の給料をどうしようかと常に悩んでいた。小さな自信を取り戻したのは、半月ほど単身ニュージャージーの別の研究室に習いに行った精密な試験管内でのクロマチン転写実験だった。やはり餅は餅屋で、きれいな生化学実験ができる「高級テクニシャン」が自分の売りなのだ、と開き直り、ボストンに帰ると闇雲に実験をしまくった。10種類以上のタンパク質複合体について解析してデータはそれなりに出てきたが、今度はどういった論文にまとめていくのか、より混沌としてきたのである。テクニシャンはサイエンティストには成れないのか。

そんな中で、CRPよりもさらに古臭いヒストンというタンパク質分子を解析し始めたのである。ヒストンは真核生物のDNAを巻き付けてコンパクトに収納する最も多い核内タンパク質である。当時、このヒストンの化学修飾が遺伝子発現情報を担うという非常に魅力的な仮説が出され、誰もがヒストン修飾酵素とその複合体をハンティングしようとしていた。その中で私は、ではヒストン自体を複合体として解析したらどうなるのか、という単純なアイデアをボスに出してみたのである。「何も取れるはずがない。」という当然の反応であったが、ヒストンのバリエーション種類について多少面白いデータを持っていたため対照実験としてやってみよう、という賭けに出たのである。少なくとも数ヶ月、\$10000単位のプロジェクトを一人自由にやらせてもらえたのは本当に幸運であり、その賭けにとりあえず勝ったのだ。

ヒトの主要ヒストンH3.1とそのバリエーションH3.3はたった5アミノ酸しか変わらない。私が解析を始めたころ、別の研究グループがその内3アミノ酸の違いがDNA複製に依存したクロマチンへの取り込みを決定するというショッキングな論文を発表した¹⁾。その生理機能の大きな違いを示唆するように、全く異なるH3.1とH3.3巨大複合体が精製できたときは、本当に手が震えたことを今でも鮮明に覚えている(図1に示す)。明け方近かったが、データをボスにメールするとすぐに一言

「Congratulations!」。

2年間のトンネルをようやく抜けた瞬間であるが、それからが本当の地獄だった。構成因子の同定まではスムーズに運んだが、タンパク質複合体の細胞内での生理機能を証明しなければならないのに、一つ一つ特異的因子をノックダウンしてもヒストンがクロマチンに取り込まれてしまう。半年後に帰国し論文投稿まで1年近くかかり、ぎりぎりまで互いの主張を譲らなかったためボスとはほとんど喧嘩状態で、最後は著者から外されることも覚悟した。アクセプトされた時は正直もうどうでも良くなっていた。しかし、今この論文1報のおかげで研究を何とか続けられているといっても過言ではない。詳細については原著²⁾及び日本語の総説³⁾を参照していただきたいが、私自身はこの論文で触れた部分はほんの序章であり、これらヒストン複合体の裏にはさらに壮大なストーリーが隠されているものと現在でも確信している。

ヒストン複合体の主要タンパク質を欠いても細胞内で特異的なヒストンがきちんと挿入されるのは何故か? 生物は一見脆弱に見えてかなり頑健にできている。35億年以上絶え間なく生命を繋いできたシステムには相当のバックアップ機構があるはずで、1つだめになって死

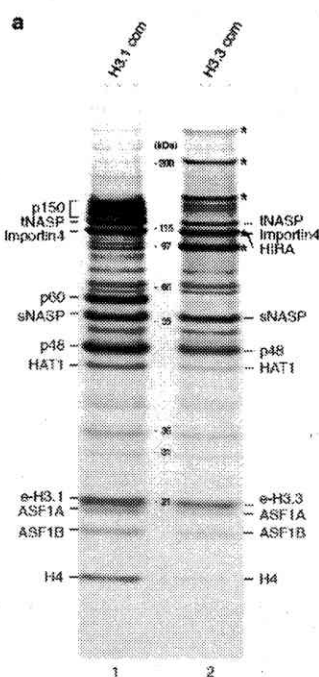


図1: ヒトヒストンH3.1とH3.3複合体の銀染色。e-H3.1, e-H3.3は精製のためにFLAG/HAエピトープタグがそれぞれ付加されたH3.1, H3.3である。後に質量分析により同定された主要構成タンパク質を示す。H3.3複合体に特異的なバンドに*を付けてあるが、H3.1複合体にあるCAF-1 p150, p60が無いことに注目してほしい。これらが、DNA複製依存的にヒストンをクロマチンに挿入する主役であり、HIRAというH3.3特異的なタンパク質がH3.3クロマチン挿入を行う。文献2から改変して引用。

んでしまうものではない。特に重要なモノであればあるほど能動的な機構だけでなく、適当にやっちゃってしまっても何とか凌ぐ機構もあるかもしれない。All or None ではない生体制御機構をどうやって解いていくのか？私たちは壮大なパズルの全てのピースさえまだ揃えられていない。

元来、単一系統の大腸菌を使って分子遺伝学を学んできた私にとって、継代培養を重ねるうちに形態が変化しヘテロな集団になっていく培養細胞は得体の知れない何となく気持ち悪いモノでもあった。ヒト培養細胞とは暴走して増殖し続ける癌細胞であり、いろいろな制御がおかしくなっているはずである。遺伝子組換えも短期間で思うように操れないもどかしさもある。思い切って、帰国後に一人で研究を続けるにあたり、金も時間も労力も格段に節約でき、何より分子遺伝学的手法が容易な酵母をモデル系にした。単細胞ではあるが、かなり性質の異なる出芽酵母と分裂酵母からもう一度ヒストン複合体を解析することで、よりファインにダイナミックなクロマチン制御機構に迫りたいと考えたのである。とは言っても、酵母を扱うのも初めてである。最初はいろいろ苦労したが、米国で身に付けた図々しさから多くの先生の助けを得て何とか解析系ができた。しかし、精製してみると思ったより単純で面白味に欠ける。どう味付けして料理するかが研究者の腕の見せ所であるが、生命科学の場合は分からないときは生物に聞くのが一番である。あーでもない、こーでもないという頭を絞って解析を続けるうちに、最近になってようやく面白いアイディアが浮かんできた。本研究科に来てから新たな複合体精製手法も確立しつつあり、多角的な解析環境がようやく整ってきている。さあ、これから反撃開始だ！この続きは、論文になってからにしたい。

独立後、口の悪い先生からは「酵母で焼き直し実験か！」「研究費とは将来への投資であり、今さら酵母をやるような奴にはあげられない」「複合体など全部ゴミ（アーティファクト）だ。純化したタンパク質でなければ精製とは言わない」と言われたが、最近では「複合体精製は機能因子群の生化学的スクリーニングであり、単なる網羅的なカタログ作りではない生体機能の俯瞰的な理解のための強力なツールである」「ポストゲノム時代の医療やバイオテクノロジー技術開発のためのシーズとなることも期待される」などと適当なキーワードを散りばめて何とか凌げるほど、さらに図々しくなってきた。

一旦そう言ってしまうと今度は口だけの粉飾と言われまいやう、地味であってもきちんとした論文として結果を残していかなければならない。走り続けるしかないトレッドミルに乗ってしまったのかもしれない。しかし、本研究科で独立した研究室を主宰するという非常に恵まれたチャンスを頂いたので、口先だけではなく成果として期待に答えられるよう努力しているつもりである。

「研究者人生は短い」「輝きはすぐ失われる」野心と言うほどのモノは持っていないが、これぞ田上の仕事という研究成果をこれから出したいものだ。まだまだ苦しく藻掻いているが、後年あのときが一番楽しかったと思えるよう精一杯努力したい。あんなに苦しかったはずのボストンの思い出が今では美しいのだから。

生物は複雑だから素敵で神秘的だ。ほんの少しでよいからベールの中身を垣間見たい。できれば、誰よりも先に、そして論理的にそっとやさしく。また甘いとお叱りを受けそうだが、その思いで研究を続けたい。

最後に、二人の恩師に感謝して拙文を閉じよう。名古屋大学の饗場弘二教授は、着任して最初の研究室配属時に「大腸菌に興味はないが、真核生物のモデル系として転写を研究したい」と言った生意気で大変失礼な私を適当にあしらひ、分子生物学研究の道へと導いて下さった。研究室の助手として採用してもらってから現在に至るまで「一人でもできることを見せてください」と常に厳しく叱咤激励していただいている。ハーバード大学の中谷喜洋教授は、最初のインタビュー時に自身の壮大な夢を語ってくれ「どうやって解きましょう？」と聞いたら「それはあなたが考えることです」と、本当に自由勝手に研究を進めさせてもらった。研究の進め方や考え方も全く異なる二人の先生だが、気付いたら自分で勝手に研究できるようになったと錯覚するほど自然に生命科学研究の仕方、サイエンスの厳しさと面白さを

ご教授いただいた。まだまだ研究者としても教員としても半人前の私であるが、今後、学生に対してそういった研究教育ができるよう心懸けたい。

- 1) Kami Ahmad and Steven Henikoff. The Histone Variant H3.3 Marks Active Chromatin by Replication-Independent Nucleosome Assembly. **Mol. Cell**, 9, 1191-1200 (2002)
- 2) Hideaki Tagami, Dominique Ray-Gallet, Geneviève Almouzni, and Yoshihiro Nakatani. Histone H3.1 and H3.3 Complexes Mediate Nucleosome Assembly Pathways Dependent or Independent of DNA Synthesis. **Cell**, 116, 51-61 (2004)
- 3) 田上英明 「ヒストン複合体から見えてくるクロマチン形成機構：クロマチン構造とエピジェネティクス制御」 □特集：クロマチンコレオグラフィー 生化学 第77巻 第3号 pp.213-221 □日本生化学会 (2005)